LC/MS Application News No.87

オンライン濃縮法による ミクロシスチン類の直接分析

ミクロシスチン類はアオコ（水の華）が産生するペプチド系の毒性化合物で、強い肝毒性や発がん性を有することからWHOではミクロシスチンRR,YR及びLRについて1ng/mlの暫定基準値を設定しています。この分析についてはアプリケーションユースNo.2でも紹介しています。通常水源地での濃度は微量であるため、固相抽出法などの濃縮法が使用されていますが、HPLCでは感度が低く1000倍以上の濃縮が必要です。しかしLC/MSを用いると、感度が高く濃縮倍率を低減できることから、オンライン濃縮法も有効です。そこで今回はループインジェクターに濃縮カートリッジを取り付けた簡便なオンライン濃縮/LC/MS法の検討を行いました。Fig.1に今回使用したシステムを示します。オートサンプラーにはループインジェクター付きのCTC社製LC-PALを使用しました。注入時は（A）の状態で1ml試料をカートリッジカラムに濃縮を行います。この際に試料中の水溶性成分はカラムに保持せず廃棄され、その後(B)に切り替えてグラジエント溶出により保持したミクロシスチン類を分析カラムに導入し分離後MSで検出されます。Fig.2及び3にはミクロシスチン類のTICとマススペクトルを示しましたが、10ppb濃度で検出が可能で、プロトン負荷の1,2価イオンが観察されました。Fig.4にはベースピークイオンをターゲットイオンとしたSIMクロマトグラムを示しましたが、河川水中0.02ppbでの検出が可能でした。従って本システムにより河川水などの環境水を直接注入することで、WHO暫定基準値の1/10以下でミクロシスチン類の測定が可能であることが確認できました。

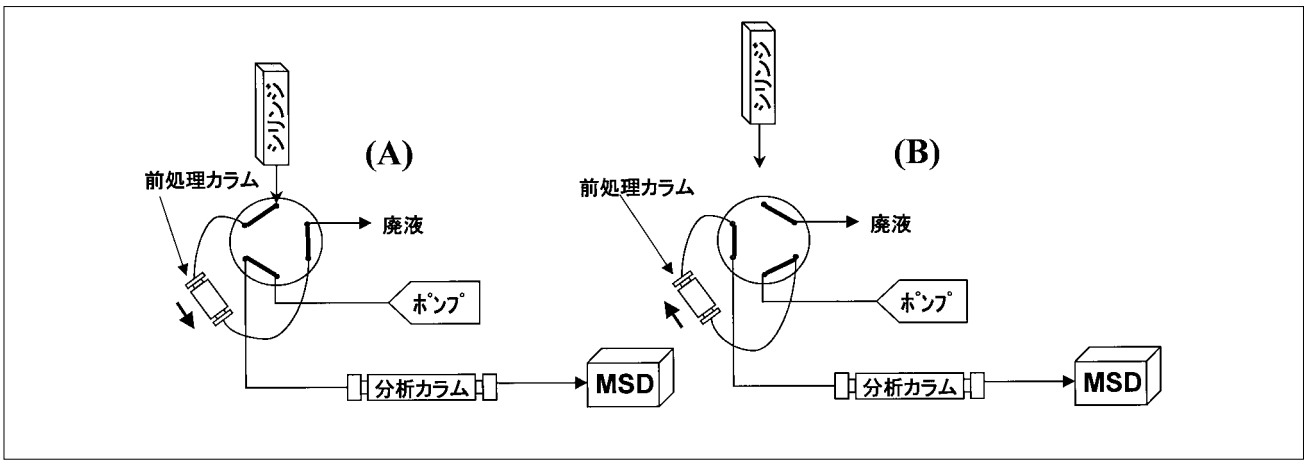

Fig.1　オンライン濃縮/LC/MSシステム

Table 1　HPLC and MS conditions

HPLC

Instrument	: Agilent 1100
Column	: Zorbax Eclips XDB C18 (150mm, 2.1mm, 5um)
Mobile phase A	: CH_3CN
Mobile phase B	0.1%HCCOOH
	A / B = 10/90 －(20min)－ 60/40
Flow rate	: 0.2 ml/min
Oven temp.	: 40 ℃
Injection mode	: 1000 µl
Injection speed	: 20ul /sec

MS

Instrument	: Agilent 1100MSD SL
Mass range	: m/z 100 ～ 1100
Ionization	: Electrospray
Fragmentor	: 140V
Nebulizer	: N_2（50 psi）
Drying gas	: N_2（10 L/min, 350 ℃）
Mode	: Positive

Agilent Technologies
TI 16B2G1-087
2001.9 発行

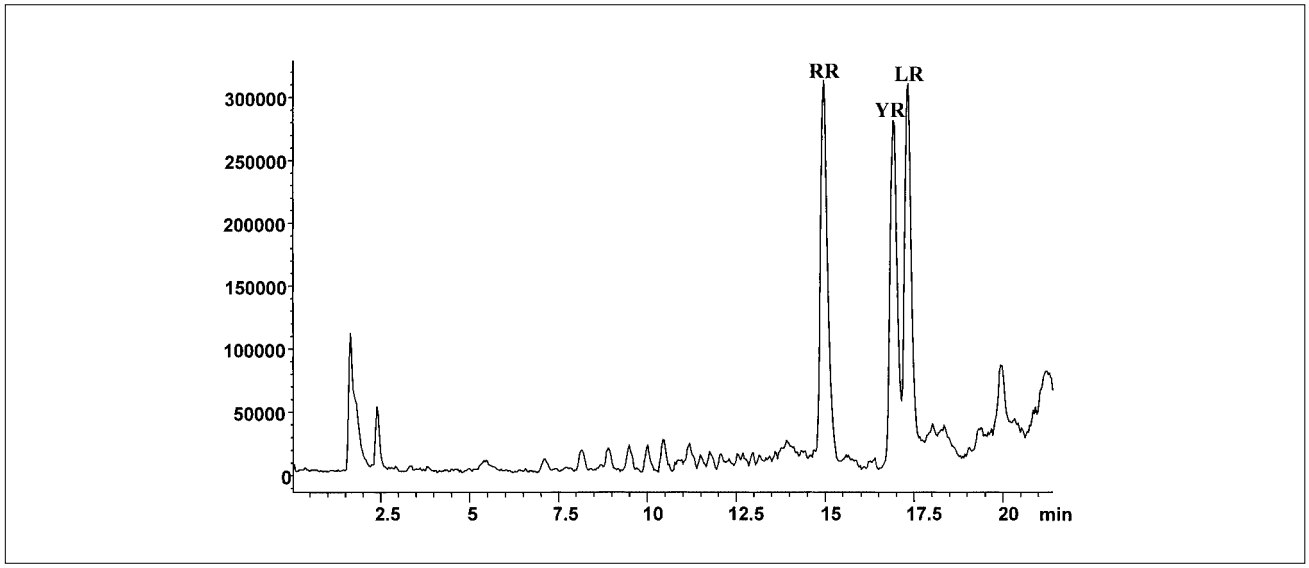

Fig.2　TIC of Microcystins（10ng /ml）

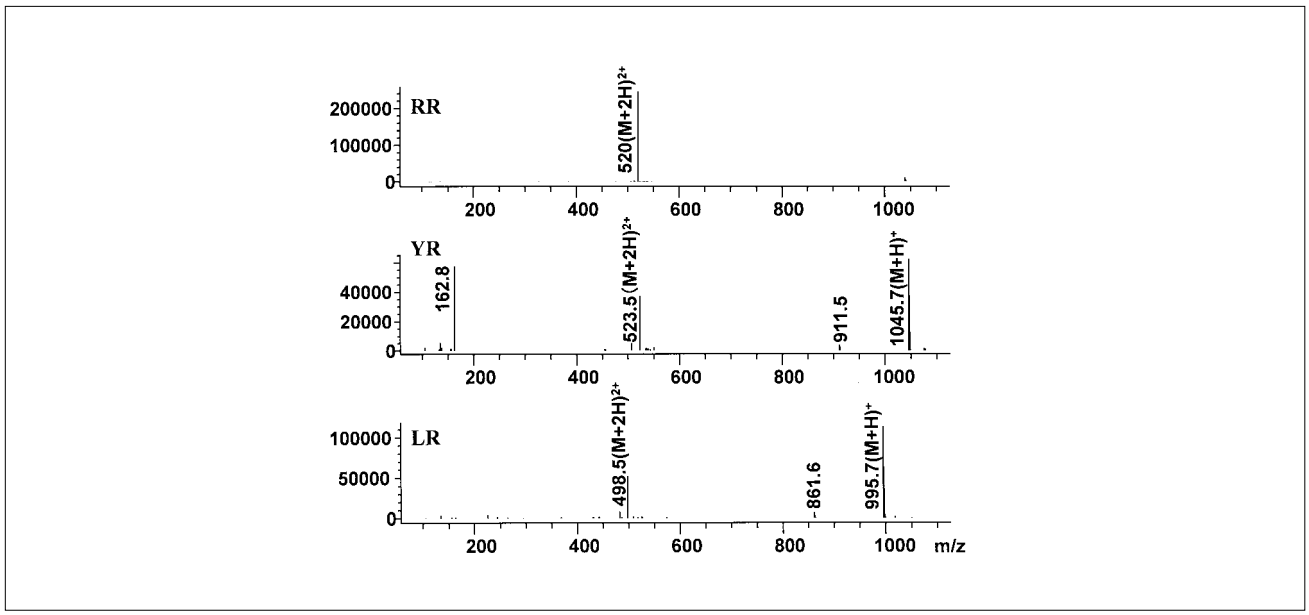

Fig.3　Mass spectra of Microcystins（10ng /ml）

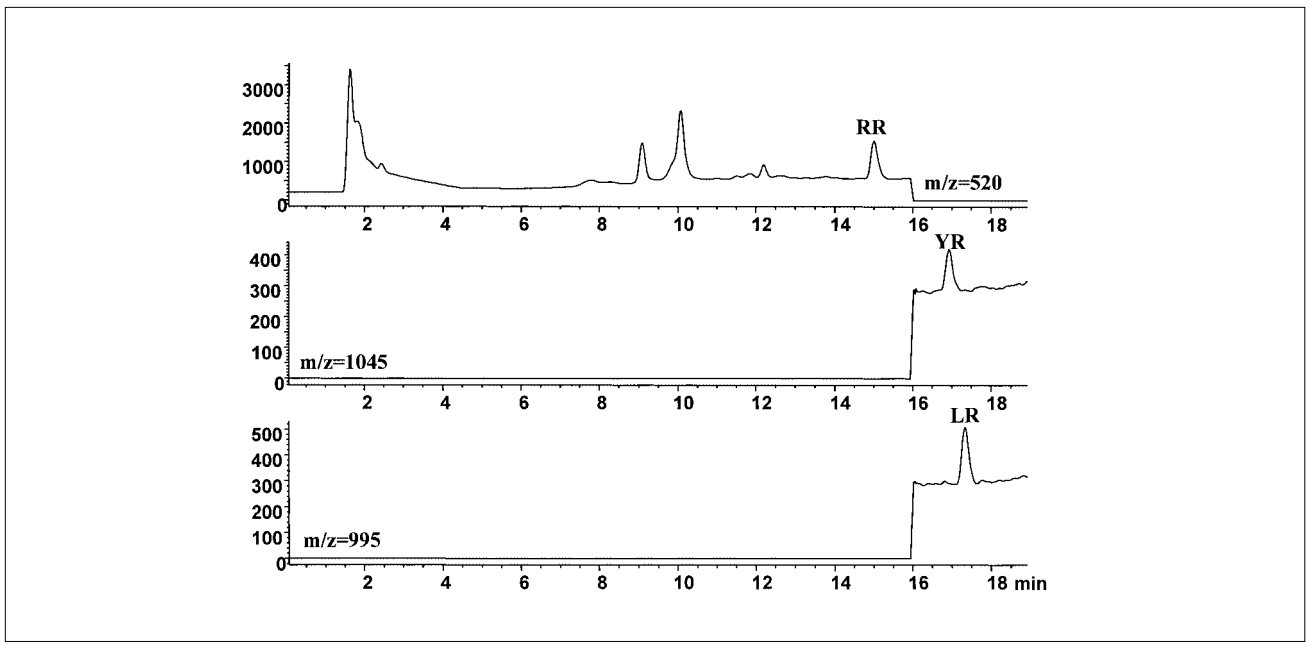

Fig.4　SIM Chromatogram of Microcystins in river water（0.02ng /ml）

本書の一部または全部を無断複製することは禁止されています。　〔記載内容は、お断りなく変更することがあります。また記載内容は検収条件ではありません。〕